

WT-CLS1 ląstelės | 300379

Bendra informacija

Description	WT-CLS1 ląstelių linija buvo sukurta 1998 m. iš pirminio Vilmsio naviko CLS metodu. Tačiau šios ląstelės turi rabdoidinių savybių, kaip 2017 m. įrodė E. Kuncė Stroup ir kt. WT-CLS1 ląstelės yra jautrios miR-16, dėl to ciklino D genų raiška sumažėja. Be to, ląstelės pasižymėjo unikaliu atsparumu IGF1R slopinimui, priešingai nei tikrojo Vilmsio naviko ląstelės.
Organism	Žmogus
Tissue	Inkstai
Disease	Rabdoidinis navikas
Synonyms	CLS1

Charakteristikos

Age	5 metai
Gender	Moteris
Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	Į epitelį panašus
Cell type	B limfoblastas
Growth properties	Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	WT-CLS1 (Cytion katalogo numeris 300379)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellSaurusAccession	CVCL_5904

Biomolekuliniai duomenys

WT-CLS1 ląstelės | 300379

Tumorigenic Taip, nuogoms pelėms. Formuojasi navikas su mažomis ląstelėmis, atitinkančiomis Vilmsio naviką (ksenograftai gali ne visiškai atitikti Vilmsio navikus, žr. E. Kuncė Stroup 2017 m.)

Viruses ŽIV-1: neigiamas, HBV: neigiamas, HCV: neigiamas

Mutational profile WT1 mutacijos būklė: laukinis tipas, CTNNB1 mutacijos būklė: laukinis tipas, nėra LOH.

Tvarkymas

Culture Medium IMDM, w: 4,5 g/l gliukozės, w: 4 mM L-glutamino, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM natrio piruvato, w: 3,024 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820800a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density 1–3 x 10⁵ ląstelių/cm²

Fluid renewal Kas 3-4 dienas

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

WT-CLS1 ląstelės | 300379

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

WT-CLS1 ląstelės | 300379

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

A*: '02:01:01, '02:17:02
B*: '18:03:01, '51:01:01
C*: '07:01:01, '15:02:01
DRB1*: '11:04:01, '14:54:01
DQA1*: '01:04:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '05:03:01
DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G
E: '01:01:01, '01:03